



TITLE:

亜鉛トランスポーターZIP4を標的
とした亜鉛吸収促進因子の探索と
作用機構の解析(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

橋本, 彩子

CITATION:

橋本, 彩子. 亜鉛トランスポーターZIP4を標的とした亜鉛吸収促進因子
の探索と作用機構の解析. 京都大学, 2016, 博士(生命科学)

ISSUE DATE:

2016-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k19867>

RIGHT:

京都大学	博士（生命科学）	氏名	橋本 彩子
論文題目	亜鉛トランスポーターZIP4を標的とした亜鉛吸収促進因子の探索と作用機構の解析		
<p>（論文内容の要旨）</p> <p>亜鉛は、生体内で鉄に次いで多く存在する必須微量元素である。小腸上部で吸収された亜鉛は、全身に広く分布しタンパク質の構造維持や亜鉛要求性酵素の補因子としての役割により、生体機能の維持に働く。そのため亜鉛が欠乏すると、味覚障害や皮膚炎など種々の欠乏症を引き起こす。近年、亜鉛欠乏は、日本をはじめとした先進国でも危惧されており、その予防の必要性が高まっている。消化管における亜鉛の吸収には、先天性亜鉛欠乏症・腸性肢端皮膚炎の原因遺伝子として同定された亜鉛トランスポーターZIP4が必須の機能を果たす。ZIP4の発現は亜鉛状態により制御されており、ZIP4は亜鉛欠乏時には腸管上皮細胞の管腔側膜（apical膜）に蓄積するが、過剰の亜鉛の投与によって apical膜からエンドサイトーシスされて細胞内に取り込まれ、分解を受けると考えられている。しかしながら、その詳細な分子機構に関しては、ほとんど解析されておらず、また、ZIP4を標的にした亜鉛栄養を改善する試みも実施されていなかった。そこで、ZIP4の亜鉛依存的な発現調節機構について解析し、得られた成果を基盤にして、亜鉛吸収効率の向上を目的としたZIP4の発現量を増加させる活性を有する食品因子の探索・同定を実施した。</p> <p>第1章では、4週齢ラットを程度の異なる亜鉛欠乏食で飼育し、消化管におけるZIP4タンパク質発現変化の亜鉛欠乏応答性に関して解析した。その結果、通常食ラットでは腸管においてZIP4を検出できず、一方で、亜鉛欠乏食ラットでは欠乏食摂取一日という極めて早い段階においてZIP4の発現を検出できることを見出した。この結果は、通常食摂取時にはZIP4を極めて低いレベルに保ち、亜鉛不足を感知して、ZIP4の発現量を増加させるシステムが存在することを示しており、意図的にZIP4の腸管での蓄積量を増加させることで亜鉛吸収効率を高めることが可能になることを示唆する結果となった。</p> <p>第2章では、腸管上皮細胞と同様に、培養液中の亜鉛状態によって内在的にZIP4を発現するHepa細胞を利用して、ZIP4の細胞膜での蓄積量を増加させる食品因子の探索と同定した活性成分の作用機構について解析した。まず、Hepa細胞に亜鉛量依存的に発現が増加するよう構築した分泌型アルカリホスファターゼレポーター遺伝子を導入して、ZIP4の発現量と、細胞内亜鉛量とを簡便に評価できる細胞を樹立した。400種をこえる食品抽出物についてスクリーニングした結果、大豆抽出物（SHG、SSA）にZIP4の蓄積量と細胞内亜鉛量を増加させる効果を認め、この効果がZIP4のエンドサイトーシスを特異的に抑制することに起因する可能性が高いことを明示した。また、SHG、SSAは、極性細胞であるCaco2細胞やMDCK細胞に発現させたZIP4のapical膜における蓄積量も増加させることを示し、その効果がZIP4の細胞外領域への作用を介して生じている可能性が高いことを示した。さらにSSAから本活性成分としてsoyasaponin Bbを同定した。また、SHG、SSA、soyasaponin Bbはいずれも細胞内亜鉛量レベルの指標となる<i>metallothionein 1</i> mRNA発現量を増加させることを示した。以上の結果は、細胞表面のZIP4の存在量を増加させる食品因子によって、細胞内亜鉛量レベルが増加したことを示唆しており、soyasaponin Bbは、このような活性を有することが確認された初めての因子となった。</p> <p>本研究により、消化管における亜鉛吸収に機能するZIP4を標的にした食品因子を活用することで、亜鉛吸収効率の向上につながることを示唆された。</p>			

(論文審査の結果の要旨)

必須微量元素である亜鉛は、タンパク質の構造維持や酵素活性発現に関わり、生体機能の維持にはたらく。近年、亜鉛欠乏は、日本をはじめとした先進国でも危惧されており、その予防の必要性が高まっている。本研究は、消化管において亜鉛吸収に機能する亜鉛トランスポーターZIP4の亜鉛依存的な発現調節機構についての解析、ZIP4の発現量を増加させる活性を有する食品因子の探索系の確立、確立した探索系を用いた活性因子の同定、及びその作用機構について解析した結果をまとめたものであり、以下のような知見を得ている。

- 1) ラットを程度の異なる亜鉛欠乏食で飼育し、消化管におけるZIP4タンパク質発現変化の亜鉛欠乏応答性に関して解析した。その結果、通常食ラットではZIP4を検出できず、一方で、亜鉛欠乏食ラットでは、欠乏食摂取一日という極めて早い段階においてZIP4の存在量が増加することを見出した。
- 2) ZIP4が通常食レベルの亜鉛によって常に分解され、極めて低いレベルに保たれていることが示されたため、ZIP4の発現量を増加させることにより亜鉛吸収効率を向上させることが可能であると考え、腸管上皮細胞と同様に、培養液中の亜鉛状態によって内在的にZIP4を発現するHepa細胞を利用して、ZIP4の発現量を増加させる食品因子の探索系を構築した。
- 3) 400種をこえる食品抽出物についてスクリーニングした結果、大豆抽出物 (SHG、SSA) にZIP4の細胞膜での蓄積量と細胞内亜鉛量を増加させる効果を認め、この効果が、ZIP4のエンドサイトーシスを特異的に抑制することに起因する可能性が高いことを明示した。
- 4) SHG、SSAは、極性細胞であるCaco2細胞やMDCK細胞でZIP4を発現させた際のapical膜における蓄積量も増加させることを示し、その効果がZIP4の細胞外領域への作用を介して生じている可能性が高いことを示した。
- 5) ZIP4の細胞膜での蓄積量を増加させるSSAの活性成分としてsoyasaponin Bbを同定した。SHG、SSA、soyasaponin Bbはいずれも細胞内亜鉛レベルの指標となる*metallothionein 1* mRNA発現量を増加させることを示した。

以上のように、本研究は亜鉛トランスポーターZIP4の存在量を増加させる食品が存在するという新しい発見に始まり、その活性成分としてsoyasaponin Bbを同定し、さらにZIP4特異的にエンドサイトーシスを抑制することによりその活性を発揮するというメカニズムを明らかにしており、食品機能学と細胞生物学に大きく貢献するものである。したがって、申請者は生命科学に関する高度で幅広い知識、専攻分野における優れた研究能力を有し、生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見と概念を提示していると判断できる。また、本論文は、論理的かつ一貫性をもって記述されていた。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。

また、平成28年1月22日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、申請者を合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日